



# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103344754 A

(43) 申请公布日 2013. 10. 09

(21) 申请号 201310173172. 4

(22) 申请日 2013. 05. 09

(71) 申请人 中国科学院宁波材料技术与工程研究所

地址 315201 浙江省宁波市镇海区庄市大道519号

(72) 发明人 巫远招 刘宜伟 李润伟 吉红伟  
邵聪磊 詹清峰

(74) 专利代理机构 北京鸿元知识产权代理有限公司 11327

代理人 陈英俊

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

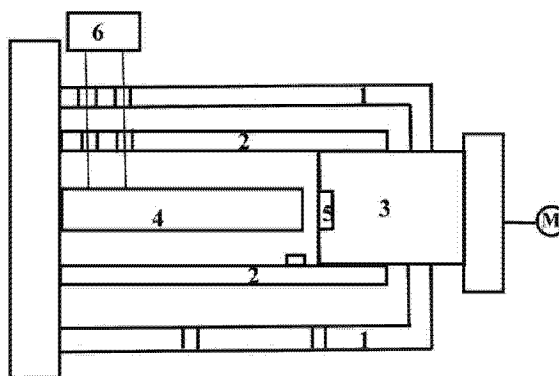
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

## (54) 发明名称

一种磁标记生物检测系统及其检测方法

## (57) 摘要

本发明提供了一种磁标记生物检测系统。该系统主要由磁场施加单元、磁传感单元、磁标记样品单元、磁标记样品输送单元、显示单元以及磁屏蔽单元组成。其中，磁标记样品单元与磁传感单元分别为独立单元，采用非接触式的检测方式，结构简单，可实现现场快速检测，并且磁传感单元可以重复利用，有效节约了检测成本，避免了交叉感染造成的假阳性，为快速、准确、低成本地检测待测生物分子提供了一条良好的途径，在食品安全、环境污染、肿瘤的早期筛查等领域具有良好的应用前景。



1. 一种磁标记生物检测系统,其特征是:主要由磁场施加单元(2)、磁传感单元(4)、磁标记样品单元(5)、磁标记样品输送单元(3)、显示单元(6)以及磁屏蔽单元(1)组成;

所述的磁场施加单元(2)用于产生直流磁场、交流磁场或者直流交流混合磁场,可以由永磁体构成,也可以由电磁线圈构成;

所述的磁传感单元(4)位于磁场施加单元(2)产生的磁场内,主要由磁传感元件构成;

所述的磁标记样品单元(5)包括无磁性基片、位于无磁性基片表面的固定层、待测目标分子、第一抗体、第二抗体与磁性微球;所述的第一抗体能够与待测目标分子进行免疫应答反应,所述的第二抗体能够与待测目标分子进行免疫应答反应,所述的第二抗体能够通过物理吸附或者化学偶联与磁性微球相结合;

所述的磁标记样品传输单元(3)用于输送磁标记样品单元(5),使其接近或接触磁传感单元(4),包括传输杆、安装在传输杆上用于承载磁标记样品单元(5)的传输台,以及用于驱动传输杆运动的电机;

所述的显示单元(6)用于显示磁传感单元(4)的检测结果;

所述的磁屏蔽单元(1)设置在磁场施加单元(2)的外围,用于屏蔽外界对整个检测系统的干扰。

2. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的磁传感元件包括巨磁电阻元件、隧穿磁电阻元件、庞磁电阻元件,以及多铁磁传感元件。

3. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的无磁性基片可以由刚性材料构成,也可以由柔性材料构成。

4. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的生物固定层可以是金属薄膜,也可以是非金属薄膜。

5. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的磁性微球的构成材料包括铁、钴、镍、 $\gamma$ 相三氧化二铁、四氧化三铁、钐钴合金、铁碳合金、铁-碳化铁合金、钴铬合金、钴铂合金、钴钨合金材料中的一种或几种的混合物。

6. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的磁屏蔽单元(1)的组成材料是硅钢或者铝合金材料。

7. 根据权利要求1所述的磁标记生物检测系统,其特征是:所述的待测目标分子是肿瘤标志物分子、食品中农药残留或病原体,或者水体中的微生物分子。

8. 根据权利要求1至7中任一权利要求所述的磁标记生物检测系统,其特征是:还包括位置传感器,用于检测磁标记样品单元(5)与磁传感单元(4)之间的实际距离,当该实际距离达到预设距离时,发送信号至电机。

9. 利用权利要求1至7中任一权利要求所述的磁标记生物检测系统检测待测目标分子的方法,其特征是:包括如下步骤:

步骤1:待测目标分子磁标记

将所述的第一抗体通过化学偶联反应固定在固定层表面,第二抗体通过物理吸附或者化学偶联与磁性微球结合,待测目标分子与第一抗体通过免疫应答反应相结合,第二抗体通过免疫应答反应对待测目标分子进行磁标记,形成磁标记样品单元;

步骤2:磁标记样品单元(5)接近或接触磁传感单元(4)

将磁标记样品单元(5)承载在传输台上,在电机驱动下传输杆向接近磁传感单元(4)

方向运动,使磁标记样品单元(5)接近或接触磁传感单元(4);

步骤3:磁传感单元(4)检测磁标记

在磁场施加单元所产生的磁场作用下,磁标记被磁化,磁传感单元(4)探测该磁标记的磁信号,显示单元(6)采集并显示该信号;

步骤4:磁标记样品单元(5)与磁传感单元(4)相分离

检测结束后,在电机驱动下传输杆向离开磁传感单元(4)方向运动,使磁标记样品单元(5)离开磁传感单元(4)。

## 一种磁标记生物检测系统及其检测方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术,尤其涉及一种磁标记生物检测系统及其检测方法,利用该系统能够低成本、高精度、高可靠性地检测待测生物,例如肿瘤标志物、食品中农药残留、病原体以及水体中特定微生物等。

### 背景技术

[0002] 目前,临床中测量微量活性物质的方法主要包括放射免疫分析方法、酶联免疫分析方法、化学发光以及电化学发光分析方法。这些方法的检测结果准确性与可靠性较高,但是需要昂贵庞大的仪器以及需要专业的操作人员,从而限制了其大范围的推广使用。

[0003] 磁标记,是表面结合有单克隆抗体的磁性微球,是近年来国内外研究比较热门的免疫学技术之一。磁标记的方法有如下优势:(1)相对于其它标记方式,如放射性元素标记、荧光标记等,磁标记没有污染,且很稳定,标记颗粒的性质受化学反应的影响小;(2)通过外加控制磁场,可以实现磁性标记有目的的移动和定位,这在智能传感器方向有很大的优势;(3)具有超高的灵敏度。因此,随着纳米科技的迅速发展,磁性纳米粒子的制备技术越来越成熟,磁标记已经应用于生物分子标记、临床诊断、靶向药物、细胞分离和酶的固定化等多种领域。

[0004] 将磁标记技术与磁场探测技术相结合,诞生了磁标记生物传感器,其基本原理是将待测目标分子与磁珠相结合进行磁标记,在外加磁场下磁珠被磁化,其边缘场在磁传感器上产生磁场分量,利用磁场探测技术对该分量进行检测从而检测出待测目标分子的含量。磁电阻效应的发展,尤其是巨磁电阻效应(GMR)效应的发现,使磁场探测的精度越来越高,因此掀起了磁标记生物传感器研究的热潮,其应用范围已涉及快速诊断、高通量药物筛选、单分子检测等领域。

[0005] 关于磁标记生物传感器的检测方法,目前文献报道多为接触式,即直接在磁传感器表面实现磁标记,导致磁传感器无法多次循环利用,大大提高了检测成本。因此,构建成本低、灵敏度高、结构简单、易于实现自动化的磁标记生物检测系统将有助于磁标记生物传感技术的推广应用。

### 发明内容

[0006] 本发明针对上述现有磁标记生物传感器不能多次循环使用,导致检测成本高的问题,提供一种磁标记生物检测系统,该检测系统结构简单,可实现现场快速检测,并且能够多次循环利用,从而大大降低了检测成本。

[0007] 本发明所提供的技术方案是:一种磁标记生物检测系统,主要由磁场施加单元、磁传感单元、磁标记样品单元、磁标记样品输送单元、显示单元以及磁屏蔽单元组成。

[0008] 所述的磁场施加单元用于产生直流磁场、交流磁场或者直流交流混合磁场,其构成不限,可以由永磁体构成,也可以由电磁线圈构成。

[0009] 所述的磁传感单元位于磁场施加单元产生的磁场内,主要由磁传感元件构成,包

包括但不限于巨磁电阻(GMR)元件、隧穿磁电阻(TMR)元件、庞磁电阻(CMR)元件以及多铁磁传感元件等。

[0010] 所述的磁标记样品单元包括无磁性基片,位于无磁性基片表面的固定层,以及第一抗体、待测目标分子、第二抗体与磁性微球;

[0011] 所述的传输单元用于输送磁标记样品单元,使其接近或接触磁传感单元,包括传输杆、安装在传输杆上用于承载磁标记样品单元的传输台,以及用于驱动传输杆运动的电机;

[0012] 所述的显示单元用于显示磁传感单元的检测结果,包括示波器、电流表或者电压表等。

[0013] 所述的磁屏蔽单元设置在磁场施加单元的外围,用于屏蔽外界,尤其是地磁场,对整个检测系统的干扰。

[0014] 所述的无磁性基片可以由刚性材料构成,也可以由柔性材料构成。刚性材料包括但不限于硅片、铜片等,柔性材料包括但不限于聚对苯二甲酸乙二醇酯薄膜材料(PET)等。

[0015] 所述的固定层具有生物兼容性,可以是金、铂等金属薄膜,也可以是高分子以及氧化物等非金属薄膜。

[0016] 所述的第一抗体是能够与待测目标分子进行免疫应答反应的活性物质。

[0017] 所述的第二抗体是能够与待测目标分子进行免疫应答反应的活性物质。

[0018] 所述的待测目标分子种类不限,可以是肿瘤标志物分子(AFP等)、食品中农药残留或微生物分子(例如 E. coil 0157 型大肠杆菌等)、水体中特定微生物分子等。

[0019] 所述的磁性微球的构成材料包括铁、钴、镍、 $\gamma$ 相三氧化二铁、四氧化三铁、钆钴合金、铁碳合金、铁-碳化铁合金、钴铬合金、钴铂合金、钴钡合金等磁性材料中的一种或几种的混合物。作为优选,所述的磁性材料为四氧化三铁,进一步优选,所述的四氧化三铁颗粒表面存在着对四氧化三铁颗粒表面进行修饰、以提高其分散等性能的生物基团。

[0020] 所述的磁屏蔽单元的组成材料不限,例如可采用硅钢或者铝合金材料组成屏蔽单元,其形状不限,可加工成圆筒状或者方盒形状等。

[0021] 作为优选,所述的磁标记生物检测系统还包括位置传感器,用于监测磁标记样品单元与磁传感单元之间的实际距离,当该实际距离达到预设距离时,发送信号至电机,以控制电机的驱动。

[0022] 本发明一种磁标记生物检测系统的检测过程如下:

[0023] (1) 待测目标分子磁标记

[0024] 将待测目标分子进行磁标记,即将所述的第一抗体通过化学偶联反应固定在固定层表面,第二抗体通过化学偶联与磁性微球结合,待测目标分子与第一抗体通过免疫应答反应相结合,第二抗体通过免疫应答反应对待测目标分子进行磁标记,形成磁标记样品单元;

[0025] (2) 磁标记样品单元接近或接触磁传感单元

[0026] 将磁标记样品单元承载在传输台上,在电机驱动下传输杆向接近磁传感单元方向运动,使磁标记样品单元接近或接触磁传感单元;

[0027] (3) 磁传感单元检测磁标记

[0028] 在磁场施加单元所产生的磁场作用下,磁标记被磁化,磁传感单元探测该磁标记

的磁信号,显示单元采集并显示该信号;

[0029] (4) 磁标记样品单元与磁传感单元相分离

[0030] 检测结束后,在电机驱动下传输杆向离开磁传感单元方向运动,使磁标记样品单元离开磁传感单元。

[0031] 综上所述,本发明一种磁标记生物检测系统结合磁标记技术与磁传感技术,完成了对待测目标分子的检测,与现有技术相比,具有如下优点:

[0032] (1) 非接触式检测

[0033] 本发明中,磁标记样品单元与磁传感单元相分离。检测时,首先将待测目标分子进行磁标记而形成磁标记样品单元,然后随着传输单元的输送与磁传感单元相接触,在磁场施加单元所产生的磁场作用下完成对磁标记的检测;检测完毕后,随着传输单元的输送与磁传感单元相分离。因此,磁传感单元与磁标记样品单元分别为独立的单元,检测方式为非接触式检测,有效避免了交叉感染造成的假阳性,并且实现了磁传感单元的重复利用,有效节约了检测成本;

[0034] (2) 检测灵敏度高

[0035] 本发明中,采用灵敏度高的磁传感器元件实现磁场探测,有效提高了整个检测系统的检测灵敏度高;

[0036] (3) 检测过程自动化、简单直观

[0037] 本发明集待测目标分子磁标记、磁感应检测,以及检测结果显示于一体,使检测系统自动化与集成化,简单、方便、直观地实现了对待测目标分子的自动检测;

[0038] 因此,本发明为快速、准确、低成本地检测待测生物分子提供了一条良好的途径,在食品安全、环境污染、肿瘤的早期筛查等领域具有良好的应用前景。

## 附图说明

[0039] 图 1 是本发明磁标记生物检测系统的结构示意图;

[0040] 图 2 是本发明磁标记生物检测系统中磁标记样品单元的结构示意图。

## 具体实施方案

[0041] 下面结合附图与实施例,进一步阐明本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明,而不用于限制本发明的范围。

[0042] 本实施例中,如图 1 所示,磁标记生物检测系统主要由磁场施加单元 2、磁传感单元 4、磁标记样品单元 5、磁标记样品输送单元 3、显示单元 6 以及磁屏蔽单元 1 组成。

[0043] 磁场施加单元 2 采用普通螺线管在圆筒状的塑料中缠绕 2000 匝而构成,大约能够提供 2 ~ 200 奥斯特的磁场。

[0044] 磁传感单元 4 位于磁场施加单元产生的磁场内。磁传感单元 4 采用自制的多铁磁传感元件,是将 22 微米厚的铜片作为衬底,钎铁硼作为铁磁材料,聚偏氟乙烯作为铁电材料,采用粘贴剂粘贴,构成悬臂梁结构式多铁磁传感器。

[0045] 如图 2 所示,磁标记样品单元 5 包括无磁性基片,位于无磁性基片表面的生物固定层,以及第一抗体、待测目标分子、第二抗体与磁性微球;

[0046] 磁标记样品传输单元 3 用于输送磁标记样品单元 5,使其与磁传感单元 4 相连接。

磁标记样品传输单元 3 包括传输杆、安装在传输杆上用于承载磁标记样品单元的传输台、用于驱动传输杆运动的电机,以及用于监测磁标记样品单元 5 与磁传感单元 4 之间距离的位置传感器。其中,传输杆采用塑料构成。

[0047] 显示单元 6 采用示波器,用于显示磁传感单元 4 的检测结果。

[0048] 磁屏蔽单元 1 采用无磁硅钢材料或者铝合金加工成尺寸合适的套筒套在磁场施加单元 2 的外围,用于屏蔽外界,尤其是地磁场,对整个检测系统的干扰。

[0049] 利用本实施例中的磁标记生物检测系统检测待测目标分子肝癌标志物甲胎蛋白(AFP)分子,检测过程如下:

[0050] (1) 待测目标分子磁标记

[0051] 基片采用硅片或者聚对苯二甲酸类塑料。生物固定层采用生物兼容性的金膜。磁标记过程具体如下:

[0052] (a) 生物固定层的制备

[0053] 在硅片或者聚对苯二甲酸类塑料基片上,通过电子束蒸发或者磁控溅射的方法在其表面镀上金膜生物固定层;

[0054] (b) 第一抗体的固定

[0055] 采用能够与待测目标分子进行免疫应答反应的活性物质——甲胎蛋白 AFP 单克隆第一抗体。首先利用自组装方法在纳米金膜上修饰上巯基十六酸,然后用 N- 羟基琥珀酰亚胺以及 1- 乙基-3-(3- 二甲氨基丙基) 碳二亚胺盐酸盐活化,接着加入 AFP 第一抗体在 4℃ 环境下静置过夜,最后清洗并采用牛血清蛋白(BSA) 封闭为结合生物探针的活性位点;

[0056] (c) 免疫磁性微球的制备

[0057] 采用能够与待测目标分子进行免疫应答反应的活性物质——甲胎蛋白 AFP 单克隆第二抗体。选用  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性微球,首先在磁性微球表面修饰上 3- 氨丙基三乙氧基硅烷,再通过戊二醛将 AFP 第二抗体偶联至其表面,然后采用牛血清蛋白封闭,并采用洗液 A (由磷酸氢二钠、磷酸二氢钠以及吐温配置,采用氢氧化钠调节该洗液 pH 为 7.4) 反复清洗游离的第二抗体;

[0058] (d) 待测目标分子的捕获

[0059] 将固定生物探针的基片放入含有待测目标分子的溶液中 37℃ 温育半小时,然后采用上述洗液 A 清洗;

[0060] (e) 免疫磁性微球的结合

[0061] 将步骤(3) 制得的免疫磁性微球与缓冲液(由磷酸氢二钠、磷酸二氢钠配置,采用氢氧化钠调节该洗液 pH 为 7.4) 混合,配制成高浓度的溶液,将步骤(4) 处理后的基片放入该溶液中 37℃ 温育半小时,然后采用上述洗液 A 清洗后取出,得到磁标记样品单元 5;

[0062] (2) 磁标记样品单元 5 接近磁传感单元 4

[0063] 将磁标记样品单元 5 承载在传输台上,在电机驱动下传输杆向接近磁传感单元 4 方向运动,使磁标记样品单元 5 移向磁传感单元 4,设定磁标记样品单元 5 与磁传感单元 4 之间的设定距离为 2 毫米,当位置传感器监测到实际距离达到该设定距离时,位置传感器发送信号给电机,电机停止对传输杆向接近磁传感单元 4 方向的驱动;

[0064] (3) 磁传感单元 4 检测磁标记

[0065] 在磁场施加单元 2 的螺线管两端施加电流产生外加磁场,该外加磁场磁化磁传感

单元 4 中的磁铁,磁铁的磁化方向与外加磁场垂直,产生磁力矩,作用在悬臂梁上,梁的弯曲变形耦合到压电薄膜上形成开路电压。当磁标记样品单元 5 接近磁传感单元 4,并与之距离为 2 毫米时,磁标记样品单元 5 上的磁性微球被磁场磁化后,改变悬臂梁上的力矩,从而改变开路电压的大小。显示单元 6 采集并显示该信号;

[0066] (4) 磁标记样品单元 5 与磁传感单元 4 相分离

[0067] 检测结束后,在电机驱动下传输杆向离开磁传感单元方向运动,使磁标记样品单元 5 离开磁传感单元 4。

[0068] 以上所述的实施例对本发明的技术方案进行了详细说明,应理解的是以上所述仅为本发明的具体实施例,并不用于限制本发明,凡在本发明的原则范围内所做的任何修改、补充或类似方式替代等,均应包含在本发明的保护范围之内。

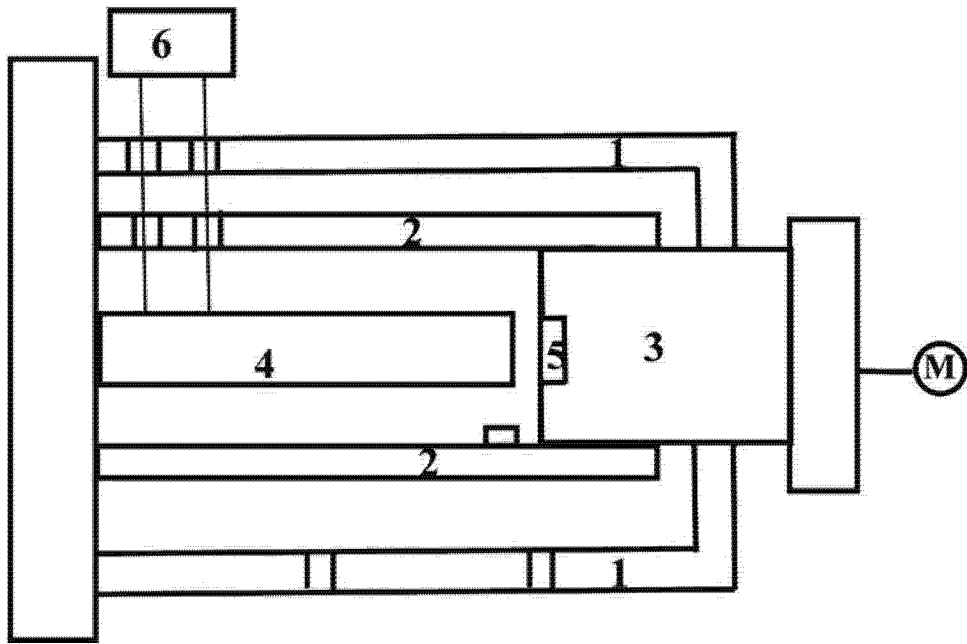


图 1

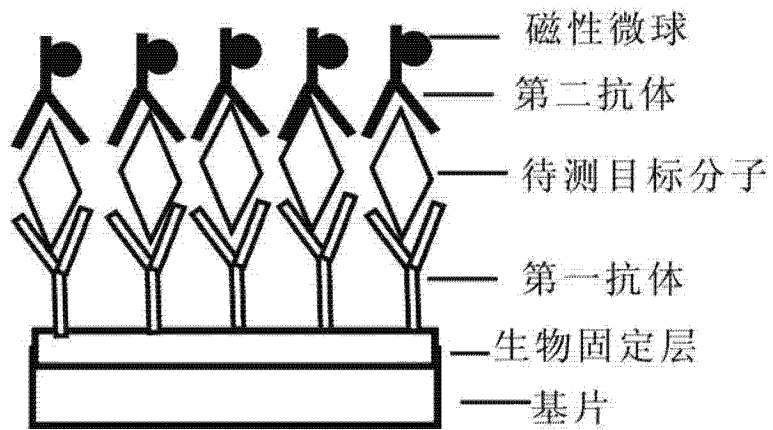


图 2

专利名称(译)	一种磁标记生物检测系统及其检测方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103344754A</a>	公开(公告)日	2013-10-09
申请号	CN201310173172.4	申请日	2013-05-09
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院宁波材料技术与工程研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院宁波材料技术与工程研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院宁波材料技术与工程研究所		
[标]发明人	巫远招 刘宜伟 李润伟 吉红伟 邵聪磊 詹清峰		
发明人	巫远招 刘宜伟 李润伟 吉红伟 邵聪磊 詹清峰		
IPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	陈英俊		
其他公开文献	CN103344754B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种磁标记生物检测系统。该系统主要由磁场施加单元、磁传感单元、磁标记样品单元、磁标记样品输送单元、显示单元以及磁屏蔽单元组成。其中，磁标记样品单元与磁传感单元分别为独立单元，采用非接触式的检测方式，结构简单，可实现现场快速检测，并且磁传感单元可以重复利用，有效节约了检测成本，避免了交叉感染造成的假阳性，为快速、准确、低成本地检测待测生物分子提供了一条良好的途径，在食品安全、环境污染、肿瘤的早期筛查等领域具有良好的应用前景。

